

## ОЦЕНКА МОРФОГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В КУЛЬТУРЕ ПЫЛЬНИКОВ РАЗЛИЧНЫХ ГЕНОТИПОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

Е.Г. Кобак, 5 курс

Научный руководитель – С.М. Ленивко, к.б.н., доцент  
Брестский государственный университет имени А.С. Пушкина

Процесс развития многоклеточных организмов из одной клетки – морфогенез, считается одним из самых сложных биологических явлений, обусловленных тотипотентностью растительной клетки. В условиях *in vitro* культуры клеток и тканей ход нормального развития растений полностью меняется. Остановка реализации исходной генетической программы клеток и тканей при культивировании приводит к дедифференцировке и пролиферации их в новом направлении. Так при культивировании пыльников в условиях *in vitro* происходит переключение развития спорогенных клеток с обычного для них гаметофитного пути на принципиально новый путь развития – спорофитный. Смены поколений (спорофитного на гаметофитное), характерной для растений *in vivo*, не происходит, а производные спорогенных клеток – микроспоры и пыльцевые зерна – ведут себя подобно зиготам, давая начало гаплоидным растениям [1]. Поскольку у большинства злаков эмбриоидогенные структуры берут начало из клеток пыльцевого зерна или микроспор и не образуются из клеток соматических тканей пыльника, то культивирование пыльников позволяет изучить проявление потенциала одиночных гаметофитных клеток, исключая возможность регенерации растений из клеток диплоидного спорофита. Однако массовое применение метода культуры пыльников, как одного из перспективных биотехнологических приемов, в развитии селекционных исследований на пшенице ограничено важным фактором – генотипом донорного растения. В связи с этим цель нашей работы заключалась в оценке морфогенетических процессов в культуре *in vitro* изолированных пыльников различных генотипов мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L.

Материалом для исследования морфогенетических процессов, индуцированных в культуре *in vitro* изолированных пыльников, послужили пять районированных в Республике Беларусь сортов и две дигаплоидные линии из генетической коллекции гомозиготных линий мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. БрГУ имени А.С. Пушкина. При выборе объектов исследования учитывался тип мягкой пшеницы (яровая или озимая), происхождение, хозяйственно–ценные признаки, включение в Государственный реестр Республики Беларусь и других стран. Так сорт Центос относится к сортам интенсивного типа немецкой селекции, пришедшим на смену в 1995 году сорту озимой пшеницы Мироновская 808. Сорт озимой пшеницы Легенда последней селекции, создан в РУП «Научно–практический центр НАН Беларуси по земледелию», отличается зимостойкостью и устойчивостью к болезням, обладает ценными хлебопекарными качествами. Занесен в госреестр РБ по Брестской, Гродненской и Минской областям с 2000 г. Включен в реестр Латвии. Сорт Дарья белорусской селекции отнесен к группе ценных по качеству зерна сортов яровой пшеницы. С 2006 года включен в реестр селекционных достижений РФ и получил широкое распространение в Центральном регионе России. Сорт Банти польской селекции с яровым типом развития менее требователен к интенсификации технологии возделывания, чем сорт Мунк немецкой селекции, внесенный в группу ценных по качеству зерна сортов. Эти сорта районированы в Беларуси с 1998 года. Отобранные дигаплоидные линии созданы путем культивирования *in vitro* пыльников межсортовых гибридов первого поколения мягкой пшеницы. Дигаплоидная линия Dh 65–32 происходит

из F<sub>1</sub> межсортового гибрида Безостая 1 × Красноярская, Dh 67–16 – Безостая 1 × Мироновская 808. Линии Dh 65–32 и Dh 67–16 имеют сходные электрофоретические спектры глиадинов [2].

Для экспериментов использовали донорные растения, выращенные в полевых условиях агро-биологического центра БрГУ имени А.С. Пушкина. Растения отбирали на стадии одноядерных вакуолизированных микроспор, определяющей успешное культивирование изолированных пыльников у яровой мягкой пшеницы [3]. Для соблюдения условий асептики работу по введению эксплантов в культуру *in vitro* выполняли в ламинарном боксе. Поверхностную стерилизацию колосьев проводили 70%-ным этанолом в течение 10 минут. По окончании стерилизации выделяли пыльники из колосков центральной части колоса. Изолированные пыльники переносили на агаризованную питательную среду, приготовленную по прописи Мурасиге и Скуга, содержащую 2,0 мг/л 2,4–Д и 0,5 мг/л кинетина. Экспланты культивировали в термостате в темноте при 26°C. Морфогенетические процессы в культуре пыльников различных генотипов пшеницы оценивали по общей частоте отзывчивых пыльников, по частоте образования эмбриоидов, по частоте формирования морфогенных каллусов. Все показатели рассчитывали по отношению количества новообразований к общему количеству инокулированных пыльников, выраженному в процентах. Статистическая обработка полученных результатов велась с применением программы Excel.

Полученные результаты, характеризующие морфогенетические процессы в культуре изолированных пыльников семи генотипов пшеницы представлены в таблице. Анализ полученных данных показал, что озимые сорта Центос и Легенда имеют низкую частоту по отзывчивости изолированных пыльников на условия культивирования. Среди сортов и дигамплоидных линий яровой мягкой пшеницы наиболее высокие показатели по всем исследуемым параметрам выявлены у сорта Банти. Сорт Дарья плохо отзывается на условия культивирования, а у сорта Мунк не обнаружено ответных реакций. Реакции дигамплоидных линий Dh 65–32 и Dh 67–16 оказались однотипными на условия культивирования по всем трем параметрам, возможно благодаря их общности происхождения по материнской линии. В целом исследованные сорта характеризовались различным уровнем отзывчивых пыльников, что подтверждает мнение ряда исследователей о сильном влиянии генотипа растений *Triticum aestivum* L. на эффективность индукции андрогенеза в культуре пыльников [4, 5].

Поскольку при андрогенезе *in vitro* возможны два пути морфогенеза – эмбриоидогенез и гемморизогенез, то нами учитывались частота образования эмбриоидов (зародышеподобных структур) и частота формирования морфогенных каллусов, которые при переносе на среду, инициирующую органогенез, образуют почки и корни. Как показали полученные данные, у яровых сортов инициальные клетки пыльников развиваются по пути эмбриоидогенеза, а у озимых – по пути гемморизогенеза.

Таблица – Характеристика морфогенетических процессов в культуре изолированных пыльников семи генотипов мягкой пшеницы

Генотип	Число выделенных пыльников	Частота отзывчивых пыльников, %	Частота образования эмбриоидов, %	Частота формирования морфогенных каллусов, %
Центос	949	1,05±0,33	0,32±0,18	0,74±0,28
Легенда	788	1,78±0,47	0	1,78±0,47
Дарья	147	0,68±0,68	0	0,68±0,68
Банти	121	15,70±3,31	18,18±3,51	4,13±1,81
Мунк	120	0	0	0
Dh 65–32	78	10,26±3,44	15,38±4,09	2,56±1,79
Dh 67–16	131	10,69±2,70	15,27±3,14	3,05±1,50

Таким образом, оценка процессов морфогенеза в культуре изолированных пыльников семи генотипов озимых и яровых форм мягкой пшеницы показала, что исследуемые генотипы различаются по отзывчивости к культивированию. Выявленные нами генотипы (сорт Банти, дигамплоидные линии Dh 65–32 и Dh 67–16), обладающие повышенными ответными реакциями, могут быть использованы в качестве ценных источников признака повышенной индукции пыльцевого эмбриоидогенеза у культурных сортов мягкой пшеницы.

## Список использованных источников

1. Круглова, Н.Н. Микроспора злаков как модельная система для изучения путей морфогенеза : автореф. дис. ... д-ра биол. наук : 03.00.15 / Н.Н. Круглова ; ВНИИР им. Н.И. Вавилова. – СПб., 2002. – 48 с.
2. Ленивко, С.М. Наследование отдельных компонентов электрофоретического спектра глиаина у гибридов  $F_1$ , полученных с участием дигаплоидных линий пшеницы / С.М. Ленивко, П.А. Орлов // Материалы междунар. симпозиума «Молекулярные механизмы генетических процессов и биотехнология». – М., 2001. – С. 386–387.
3. Горбунова, В.Ю. Методические аспекты культивирования изолированных пыльников пшеницы / В.Ю. Горбунова, Н.Н. Круглова. – Уфа: БНЦ УрО АН СССР, 1988. – 20 с.
4. Орлов, П.А. Клеточные и генно-инженерные технологии модификации растений / П.А. Орлов. – Минск : Тонпик, 2006. – 248 с.
5. Сельдиминова, О.А. Оценка коллекции генотипов яровой мягкой пшеницы по отзывчивости изолированных пыльников в условиях культуры *in vitro* / О.А. Сельдиминова, Н.Н. Круглова, В.И. Никонов // Известия УНЦ РАН. – 2011. – № 2. – С. 22–26.